

**DIE SERUMKONZENTRATION VON PANKREASGLUCAGON
UNTER VERSCHIEDENEN KLINISCHEN UND
TIEREXPERIMENTELLEN BEDINGUNGEN**

von
Dieter Scholz
—
aus
Nürnberg

Aus dem Laboratorium der Chirurgischen Klinik
(Prof. Dr. G. Hegemann)
und der Urologischen Abteilung
(Prof. Dr. A. Sigel)
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

DIE SERUMKONZENTRATION VON PANKREASGLUCAGON UNTER VERSCHIEDENEN KLINISCHEN UND TIEREXPERIMENTELLEN BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Dieter Scholz
aus
Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer
Referent: Priv.-Doz. Dr. Dr. P.O. Schwille
Korreferent: Prof. Dr. G. Hegemann
Tag der mündlichen Prüfung: 17. März 1975

Ich bin Herrn Privatdozent Dr. Dr. P.O. Schuille
für die Überlassung des Themas und für die mir
gewährte Unterstützung sehr zu Dank verpflichtet.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einführung	1
Problemstellung	4
Patientengut und Tiermaterial	7
Bestimmungsmethoden	10
Ergebnisse	12
Diskussion	24
Zusammenfassung	30
Literaturverzeichnis	32
Lebenslauf	34

E I N F Ü H R U N G

Als Banting und Best 1921 ihre ersten Pankreasextrakte an pankreatektomierten Hunden testeten, beobachteten sie, daß der erwarteten Hypoglykämie eine leichte, reproduzierbare Hyperglykämie vorausging.

Auf Grund dieser Beobachtungen konnten Murlin und seine Mitarbeiter 1923 die für die Hyperglykämie verantwortliche Substanz vom Insulin trennen, die sie Glucagon nannten.

Die Isolierung und Kristallisation von Pankreasglucagon des Schweines durch Staub 1953 und 1955, ermöglichten die biologische und chemische Erforschung des Hormons.

1956 gelang Bromer und Mitarbeitern die Klärung der Molekülstruktur des Pankreasglucagons.

Die 1957 von Berson und Yalow eingeführte Technik des Radioimmunoassays zur Bestimmung von Peptidhormonen benützte Unger 1961, um Pankreasglucagon im Serum zu bestimmen.

Wünsch konnte 1968 die Totalsynthese von Pankreasglucagon durchführen und zeigen, daß synthetisch hergestelltes Pankreasglucagon die gleiche Aminosäurezusammensetzung und die gleichen physiologischen und immunologischen Eigenschaften besitzt wie menschliches Pankreasglucagon und jenes des Schweines (1).

Struktur :

Pankreasglucagon ist ein Polypeptidhormon mit einer unverzweigten Aminosäurenkette von 29 Aminosäuren und mit einem Molekulargewicht von 3485.

H₂N-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser- Lys-Tyr-Leu-
Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trn-Leu-Met-Asn-Thr

Pankreasglucagon (pGl) wird von den alpha-Zellen der Pankreasinseln in das Pfortaderblut sezerniert, zur Leber und in die peripheren Gewebe transportiert. Seine Sekretion wird durch Hypoglykämie stimuliert und durch ansteigende Blutglucosekonzentration gehemmt. Aminosäuren stimulieren die Sekretion ebenfalls (2,3), während sie durch Fettsäuren gehemmt werden soll (4,5). Unklar ist noch, welche anderen körpereigenen Hormone beim Menschen und beim Versuchstier die pGl-Homöostase mit beeinflussen.

Im Vordergrund seiner Wirkung steht die Bilanzierung des Kohlehydratstoffwechsels durch Glycogenolyse, Hemmung der Glycogensynthese und Stimulierung der Gluconeogenese aus Präkursoren (Aminosäuren etc.). Die Stoffwechselwirkungen von pGl und Insulin sind auf vielen Ebenen gegensätzlich.

Neben pGl mit der beschriebenen Sequenz existiert eine weitere glucagonähnliche Peptidstruktur, die ausschließlich in der Wand des oberen Dünndarms (Duodenum - Ileum) synthetisiert und freigesetzt wird. Viele gegen pGl entwickelte Antiseren reagieren

mit dem aus Darmteilen extrahierbarem glucagon-ähnlichen Material. Darmwandglucagon muß daher in der Aminosäuresequenz Unterschiede zum pGI aufweisen (6). Die genaue Struktur ist bisher nicht bekannt, jedoch gelingt es mit relativ rohen Extrakten einen präzisen Radioimmunoassay aufzubauen (Antikörperproduktion), in welchem aber ein hochgereinigter Extrakt als Standard - Bezugssubstanz dienen muß. Dieses Peptid wird durch Glucoseingestion verstärkt freigesetzt und wurde bisher, insbesondere wegen seiner ausgeprägten Eigenschaft rasch große Mengen Insulin freizusetzen, als das funktionelle Bindeglied zwischen Dünndarmwand und Pankreas-beta-Zelle betrachtet.

PROBLEMSTELLUNG

Die meisten bisherigen Untersuchungen über Änderungen der Serumkonzentration von pGl bezogen sich auf seine Bedeutung bei der Regulation der Glucose. Obwohl das Hormon schon frühzeitig als ein nachhaltiger Aktivator der hepatischen Glycogenolyse erkannt wurde, brachten erst die Untersuchungen während der letzten Jahre den endgültigen Beweis dafür, daß pGl der limitierende Faktor der aktuellen Glucosekonzentration sein muß (7).

Die Arbeitsgruppe um R.H.Unger (Dallas, U.S.A.) konnte einen direkten Einfluß auf die Insulinfreisetzung der beta-Zelle des Pankreas nachweisen, und daß umgekehrt neben einem Glucosemangel auch verschiedene Aminosäuren die Synthese und Abgabe des Hormons an das Blut mehr minderselektiv stimulieren können (Alanin, Arginin etc.). Es wurde ersichtlich, daß eine gegebene Glucosekonzentration nicht allein vom Angebot an Glucose selbst aus der Leber und dem zeitgleichen Insulinspiegel resultiert, sondern zusätzlich von all jenen Faktoren beeinflusst wird, die ihrerseits die pGl-Konzentration verändern können.(8).

Durch die Beobachtungen von Paloyan et al.(9) wurden allgemein Studien initiiert, die den Einfluß von pGl auf die Regulation des Mineralstoffwechsels und von Elektrolyten zum Gegenstand hatten.

Heute darf als gesichert gelten, daß exogen verabreichtes pG1 hypocalcämisch und hypophosphatämisch wirksam ist und daß eine Reihe von Elektrolyten (Calcium, Phosphor, Natrium) vermehrt renal ausgeschieden werden.

Im Zusammenhang mit der ebenfalls hypocalcämischen Aktivität von thyreoidalem Calcitonin führten diese Beobachtungen zu der Vermutung, daß dieses möglicherweise nur nach Stimulation durch primär freigesetztes pG1 eine hypocalcämische Aktivität entfalten kann. Während für mehrere Tierspezies ein solcher Ablauf hormoneller Ereignisse als erwiesen bezeichnet werden darf (10), fehlen für den Menschen bisher ähnliche Befunde. Da die erwähnten Elektrolytveränderungen, insbesondere im Urin, auch nach Verabreichung von Calcitonin zu beobachten sind, bleiben über die Pathophysiologie von Störungen des Mineralstoffwechsels noch immer viele Fragen offen.

Einige von ihnen ließen vermuten, daß eine Fehlregulation von pG1 der erste Schritt in der Gesamtkette krankhafter Ereignisse sein kann. Zu diesen zählen die sogenannte Hypercalciurie mit sehr häufig assoziierter Bildung von calciumhaltigen Konkrementen der abführenden Harnwege, die zeitliche Koinzidenz von gastroduodenalen Ulcusbildungen mit primärem Hyperparathyreoidismus (HPT), die ungeklärte Natur von streßbedingten Ulcerationen des Magens beim Versuchstier und Menschen, in deren Zusammenhang eine Minderdurchblutung der Magenmucosa

eine vorrangige Rolle spielt, und letztlich die bisher nicht bewiesene Existenz eines sogenannten natriuretischen Hormons. Dieses müßte neben einer natriuretischen Wirksamkeit auch eine verstärkte renale Ausscheidung von cyclischem Adenosinmonophosphat, anorganischem Phosphat und Calcium als wesentliche Wirkungskomponenten zeigen.

Im Verlauf mehrerer Jahre wurden in der gleichen Reihenfolge Studien an geeigneten Patienten und an Versuchstieren in der Absicht durchgeführt, das Verhalten der aktuellen pGl-Konzentration zusammen mit bisher besser bekannten Veränderungen des Stoffwechsels zu studieren und wechselseitige Beeinflussungen transparent zu machen.

PATIENTENGUT UND TIERMATERIAL

1. Versuch

Messung der Nüchternkonzentration von pGl und Suppressionsversuch durch Verabreichung oraler und intravenöser Glucose bei Gruppen von Harnsteinpatienten.

In die Untersuchung kamen 20 gesunde Vergleichspersonen, 30 Patienten mit nachgewiesener Hypercalciurie (HC), 16 Patienten mit Harnsäuresteinbildung (HS) und 15 mit primärem Hyperparathyreoidismus (HPT).

Dem Versuch ging immer eine 12 - 15 stündige Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz voraus.

Es wurden nach Alter und Körpergewicht vergleichbare Probanden aus den zu prüfenden Gruppen gesucht. Jeweils 10 pro Gruppe wurden intravenös (0,5 g Glucose/kg Körpergewicht) und oral (1,75 g Glucose/kg Körpergewicht) belastet. Die verfügbare Anzahl an HPT-Patienten war :

i.v. n = 7; oral n = 3 .

Die während des Versuchs ausgeschiedenen Urinelektrolyte wurden auf Kreatinin normalisiert und die Gruppen einander gegenübergestellt.

2. Versuch

pGl-Stimulation durch Pentagastrin (intramuskulär).

An Kollektiven von gesunden Vergleichspersonen ($n = 8$) und Patienten mit klinisch nachgewiesenem ulcus duodeni ($n = 9$) wurde das Verhalten von pGl, Serum-pH und der Calciumfraktionen im Serum nach Injektion von Pentagastrin ($6\mu\text{g/kg}$ Körpergewicht) studiert. Diese Dosis ist bei routinemäßigen Sekretionsanalysen des Magens üblich.

Die praeexperimentell aufgestellte Magensekretionsanalyse ergab folgende Befunde : Gesunde
Nüchternsekretion = $2,38 \text{ mval/h}$; Maximalsekretion = $20,01 \pm 1,72 \text{ mval/h}$.

Ulcuspatienten : Nüchternsekretion = $6,47 \pm 1,94 \text{ mval/h}$;
Maximalsekretion = $37,05 \pm 2,70 \text{ mval/h}$.

3. Versuch

Verhalten von pGl im Fesselungsstreß der Ratte.

Zur Untersuchung kamen männliche Wistarratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 200 g (SPF), die nach einem von Brodie und Hanson (11) beschriebenen Verfahren gestreßt wurden oder als ungestreßte Kontrollen dienten. Die Tiere wurden willkürlich unterteilt in intakte ($n = 37$), scheinoperierte ($n = 35$) und eine Woche zuvor adrenaletomierte ($n = 36$).

4. Versuch

Verhalten von pG1 nach akuter Expansion des Extrazellulär-raumes.

An intakten Bastardhunden beiderlei Geschlechts wurden Clearance-Untersuchungen nach Induktion eines expandierten Extrazellulär-raumes durch Verabreichung von 0,15 molarer Kochsalzlösung (0,5 ml/kg/min) durchgeführt. Die nach zusätzlicher Stimulation von pG1 durch Arginingabe erreichten Hormonkonzentrationen wurden jenen vor der Stimulation und auch jenen vor dem Setzen der Volumenexpansion ermittelten Werten gegenübergestellt.

Das gleiche Verfahren wurde für die Darstellung der Natriumclearance angewandt. In einer zweiten Versuchsserie wurden pankreatektomierte Tiere expandiert, um den Fortfall der pG1-Bildungsstätten quantitativ bewerten zu können,

BESTIMMUNGSMETHODEN

PGI wurde unter Verwendung des Antikörpers 30K (R.H.Umger, Dallas) radioimmunologisch in Anlehnung an die von Aguilar-Parada (12) beschriebene Methode bestimmt. In diesem System beträgt das Gesamtvolumen/Inkubationsröhre 1,2 ml, worin 0,5 ml $^{125}\text{J-pGI}$ (= 15 pg) und 0,2 ml unbekannte Proben- oder Standardlösung enthalten sind. Der Anteil an Antiserum beträgt 0,4 ml, das restliche Volumen besteht aus 0,2 molarem Glycinpuffer, der zusätzlich bovines Serumalbumin enthält. Die Endverdünnung in den Versuchen dieser Arbeit war 1 : 75000.

Die gesamte Inkubationsdauer betrug 96 Stunden. Anschließend wurde das Inkubationsgemisch durch Zugabe von Tierkohle/Dextran in Puffer durch Zentrifugieren getrennt.

Die Standardkurven wurden so erstellt, daß die prozentuale Tracerbindung an dem Antikörper (y-Achse) der jeweiligen Standardkonzentration (x-Achse) gegenübergestellt wurde.

Der Variationskoeffizient in der Serie (wiederholte Bestimmung der gleichen Probe) schwankte zwischen 5 und 10 Prozent, in wiederholten Bestimmungen zwischen 7 und 16 Prozent.

Insulin wurde mittels eines Radioimmunosorbens-Tests (Sephadex G25; deutsche Pharmacia-GmbH) bestimmt und Glucose nach der Glucoseoxydase-Methode unter Verwendung eines Glucose-Analysers (Beckmann).

Soweit andere Substanzen (Harnsäure, Phosphat, Magnesium) erwähnt wurden, entstammen sie den routinemäßig üblichen Bestimmungsmethoden des Mineralstoffwechsellabors der Klinik.

Gesamtcalcium und seine biologischen Fraktionen wurden unterschiedlich erfaßt : Titration mittels EGTA und Calcein als Indikator (Gesamtcalcium), ultrafiltrierbares Calcium nach vorheriger Membranfiltration im geschlossenen Millipore-Kammersystem (Stickstoff-Überdruck), ionisiertes Calcium unter Verwendung einer sensitiven Elektrode im Durchflußsystem (Ausstattung der Firma Orion, U.S.A.).

Natrium wurde flammenphotometrisch erfaßt, das Blut-pH mit einer Mikroelektrode der Firma Radiometer (Type PHM 71).

Die Sekretionsanalysen wurden durch Titration mit 0,1 n NaOH bis zu einem mittleren Blut-pH von 7,40 ermittelt.

In den Streßversuchen wurde der O_2 -Partialdruck der Magenmucosa (pO_2) polarographisch gemessen (13). Serumgastrin wurde radioimmunologisch und der Ulcusindex nach Brodie und Hanson (11) ermittelt.

Die Inulinbestimmung bei den Clearanceversuchen ist nach der von Heyrowsky (14) angegebenen Methode ausgeführt worden. Die durch Glucosebeimengung verursachte Extinktionsänderung wurde bei jeder Bestimmung berücksichtigt.

ERGEBNISSE

1. Nüchtern-pGl und Suppressionsversuch

Die Nüchternwerte (Abb.1) bei Gesunden (50-200 pg/ml) liegen innerhalb des früher von Unger et al.(15) angegebenen Bereiches.

Bei HPT-Kranken ist pGl deutlich erhöht, während es bei HS-Kranken eher mit Gesunden vergleichbar ist. Eine Zwischenstellung nehmen Patienten mit Calciumsteinbildung ein : viele haben bereits deutlich erhöhtes pGl (größer als 200 pg/ml). Der Überlappungsbereich zum primären Hyperparathyreoidismus ist kleiner, aber stärker ausgeprägt zu Gesunden.

Im Suppressionsversuch mittels i.v.Glucose (Abb.2) entwickelt sich lediglich bei klinisch gesunden Versuchspersonen ein rasch einsetzender pGl-Abfall mit einem reaktiven Anstieg bis in die Höhe der Ausgangswerte (60. Minute).

Im Gegensatz hierzu ist der pGl-Abfall bei Steinkranken und insbesondere bei HPT-Kranken träge bzw. nicht vorhanden und der Wiederanstieg ist allenfalls bei Kranken mit metabolischer Harnsteinbildung (HC) angedeutet. Diesem charakteristischen Verhalten von pGl entspricht eine rasche Elimination der Glucose aus der Blutbahn bei Gesunden, und eine eher verzögerte bei allen Patienten.

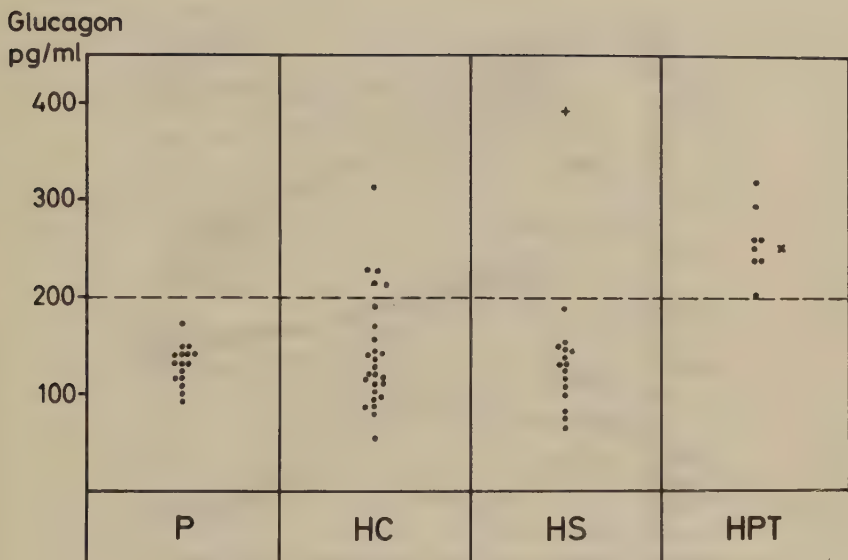


Abb. 1

Nüchternwerte von Pankreasglucagon im peripheren Venenblut bei Gesunden (P) und Patienten mit metabolisch bedingter Harnsteinkrankheit.

(HC = idiopathische Hypercalciurie, HS = Harnsäuresteine, HPT = primärer Hyperparathyreoidismus)

Symbole : + = HPT-Verdacht; x = AT₁₀-Intoxikation

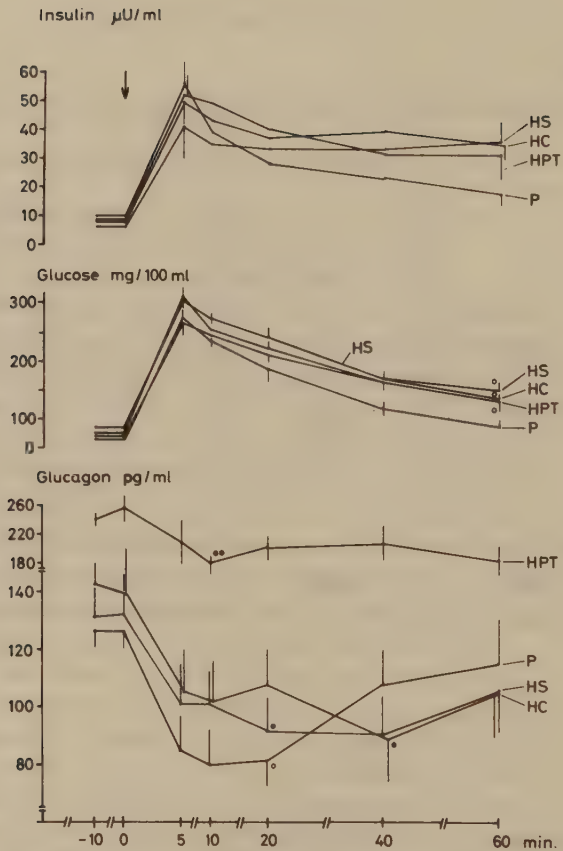


Abb. 2

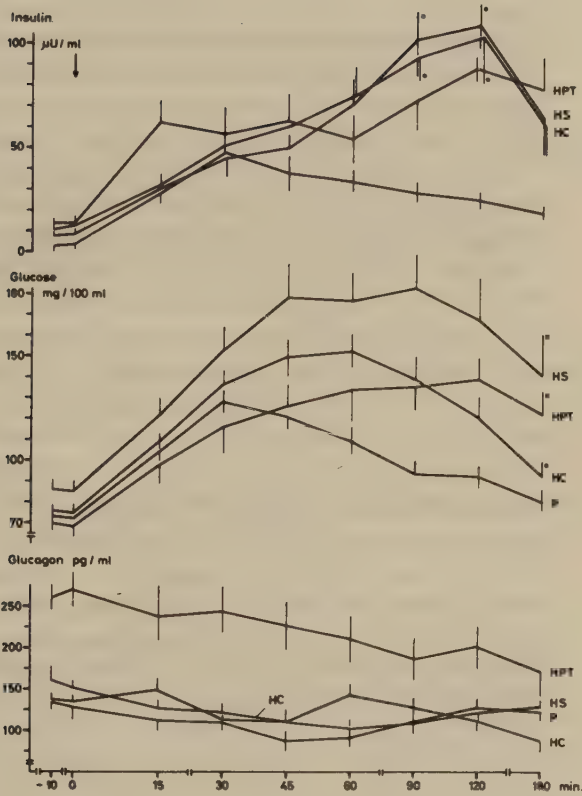


Abb. 3

Zu Abb. 2 und 3

Abb. 2 : i.v. Glucosebelastung bei Gesunden (P) und 3 Gruppen von Patienten mit metabolischer Harnsteinbildung.

(HC = Hypercalciurie; HS = Harnsäurelithiasis; HPT = primärer Hyperparathyreoidismus).

Signifikante Unterschiede gegenüber dem Ausgangswert (pGl) wurden mit dem t-Test für Paaranalysen ermittelt, oder mit dem zweiseitigen t-Test (Glucose).

· : $p < 0,05$; ·· : $p < 0,01$; o : $p < 0,001$.
 : Beginn der Glucoseinjektion.

Abb. 3 : orale Glucosebelastung bei Gesunden (P) und Harnsteinkranken (Gruppensymbole siehe Abb. 2). Die Heterogenität der Stichproben (Insulin) wurde durch zweifache Varianzanalyse gesichert. Die Unterschiede in der Glucosekonzentration zum Zeitpunkt von 180 Minuten wurden nach dem zweiseitigen t-Test ermittelt.

· : $p < 0,05$

Da die Insulinkonzentration bei den Patienten zeitgleich nicht etwa vermindert, sondern eher erhöht ist, kann ein Insulinmangel als direkte Ursache der mangelhaften Supprimierbarkeit der alpha-Zellen ausgeschlossen werden.

Nach oraler Glucosegabe (Abb.3) fällt pGl lediglich bei Gesunden stärker ab (45. Minute, nicht signifikant), nicht jedoch bei Patienten mit metabolischer Harnsteinbildung (HC, HS). Bei HPT ist wiederum ein kontinuierlicher Abfall bis zur 180. Minute zu beobachten.

Diesem Verhalten steht ein rascher Glucoseabstrom aus dem Blut bei Gesunden gegenüber, jedoch ein erheblich verzögerter bei allem Kranken.

Mit Einschränkung gilt das gleiche für die Insulinkonzentration : die Maximalwerte werden im Gegensatz zu Gesunden (30. Minute) erst zwischen der 90. und 120. Minute erreicht.

2. Pentagastrinstudie

Einmalige Verabreichung von biologisch aktivem Pentapeptid des Gastrins führt bei Gesunden zu einem prompten Anstieg von pGl (Kontrollwerte : 142 ± 18 pg/ml; 15. Minute : 183 ± 23 pg/ml; $p < 0,01$). Bereits nach 45 Minuten sind die Ausgangswerte wieder erreicht. Im Gegensatz dazu fehlt der initiale pGl-Anstieg bei Kranken mit ulcus duodeni (Kontrollwerte : 133 ± 12 pg/ml; 15. Minute : 134 ± 17 pg/ml). Erst in der 30. Minute ist der relative pGl-Anstieg vergleichbar jenem Gesunder in der 15. Minute. Bis zur 60. Minute werden die Ausgangswerte wieder erreicht (Tab.1).

Tabelle 1 : Beeinflussung der pGI-Konzentration durch einmalige i.m. Injektion von Pentagastrin (6µg/kg Körpergewicht).
Pankreasglucagon bei Gesunden (controls) und Kranken mit ulcus duodeni (ulcer).
Mittelwerte $\pm$ SEM, n = Anzahl der Probanden.

	n	baseline	15	30	45	60	90	120	180 min
controls									
pH	8	7.38 $\pm$ 0.01	7.41 $\pm$ 0.02*	7.40 $\pm$ 0.01	7.40 $\pm$ 0.01	7.39 $\pm$ 0.01	7.38 $\pm$ 0.01	7.37 $\pm$ 0.05	7.37 $\pm$ 0.08
pGI ^x	5	142 $\pm$ 18	183 $\pm$ 23**	175 $\pm$ 25*	143 $\pm$ 15	147 $\pm$ 14	144 $\pm$ 17	126 $\pm$ 19	119 $\pm$ 15
ulcer									
pH	9	7.36 $\pm$ 0.01	7.41 $\pm$ 0.02 ⁺	7.41 $\pm$ 0.01**	7.41 $\pm$ 0.02 ⁺	7.40 $\pm$ 0.01 ⁺	7.41 $\pm$ 0.02 ⁺	7.41 $\pm$ 0.02	7.39 $\pm$ 0.02
pGI ^x	5	133 $\pm$ 12	134 $\pm$ 17	169 $\pm$ 15*	154 $\pm$ 21	142 $\pm$ 23	123 $\pm$ 29	121 $\pm$ 26	121 $\pm$ 26

x: pg/ml; p - : * < 0.05, ** < 0.01, + < 0.005

Gleichzeitig entwickelt sich unter Pentagastrin ein Anstieg des Serum-pH, der bei Ulcuskranken stärker ausgeprägt ist als bei Gesunden. Außerdem ist diese Tendenz zur metabolischen Alkalose bei ersteren länger vorhanden als bei den letzteren. Während das Gesamtcalcium im Serum in beiden Gruppen bis zur 130. Minute vergleichbar ist (Abb.4), unterscheiden sich die biologischen Fraktionen erheblich : bei Gesunden kommt es initial bis zur 20. Minute zum Anstieg des ultrafiltrierbaren Anteils, außerdem zum Anstieg des Gesamtproteins. Der ionisierte Anteil bleibt konstant. Bei Ulcuspatienten fallen ultrafiltrierbares und ionisiertes Calcium zusammen mit dem Gesamtprotein des Serums bis zur 60. Minute deutlich ab. Ab diesem Zeitpunkt entwickelt sich ein isolierter Anstieg des ultrafiltrierbaren Calciums.

3. Streßversuche -

Die Daten der Tabelle 2 beweisen, daß pG1 im Fesselungsstreß der Ratte ansteigt. Außerdem kann belegt werden, daß bereits milde Formen von Streß wie Scheinoperationen erhöhtes pG1 nach sich ziehen. Das gleiche gilt für alleinige Adrenalektomie ohne zusätzlichen Fesselungsstreß. Die höchsten pG1-Werte sind nach Adrenalektomie und zusätzlichem Streß zu beobachten.

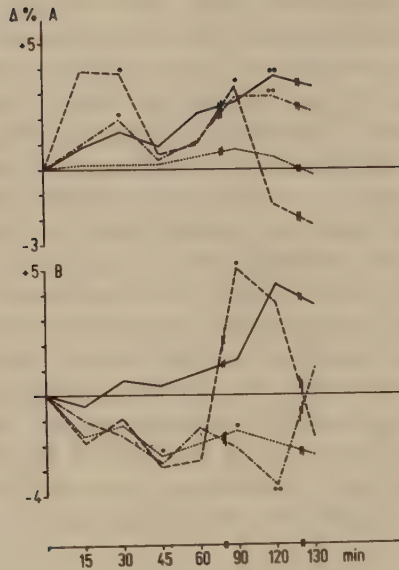


Abb. 4

Beeinflussung der Ca-Fractionen im Serum durch einmalige i.m. Injektion von Pentagastrin ($6\mu\text{g}/\text{kg}$).

A : gesunde Vergleichspersonen

B : Patienten mit ulcus duodeni

Dargestellt sind die Mittelwerte der prozentualen Abweichung vom Ausgangswert des jeweiligen Parameters (Ausgangswert = 100 Prozent).

Symbole : — = Gesamtcalcium, --- = ultrafiltrierbares Calcium, = ionisiertes Calcium, -.-.- = Gesamtprotein.

• : $p < 0,05$; •• : $p < 0,01$

Tabelle 2 : Einfluß von Fesselungsstress unterschiedlicher Zeitdauer auf die Entstehung von Strefulcera bei verschieden präparierten Ratten.
Dargestellt sind das immunoreaktive pgl und Gastrin (G), der Partialdruck der Magenmucosa (pO₂) und der Ulcusindex (U.I.), sowie Gesamtcalcium (Ca_t) und Gesamtprotein (TP) im Serum. C = Kontrolltiere, S = gestresste Tiere.
Mittelwerte $\pm$ SEM, () = Anzahl Versuchstiere.

Gruppen	Stress h	U.I.	pO ₂ mm Hg	G pg/ml	pgl pg/ml	Ca _t mg/100ml	TP g/100ml
1. Intakt (C)	24	0 (19)	19.08 0.34 (16)	137 17 (18)	135 13 (20)	10.49 0.14 (19)	6.74 0.18 (14)
2. Intakt (S)	24	20.75 (18)	9.77 0.40 (19)	119 12 (18)	333 67 (19)	8.60 0.20 (20)	6.13 0.22 (13)
3. Scheinoperiert (C) ^d	24	0 (17)	18.58 0.27 (19)	162 13 (18)	170 19 (19)	10.37 0.11 (19)	6.51 0.18 (19)
4. Scheinoperiert (S) ^d	24	19.85 (18)	9.92 0.20 (20)	96 5 (20)	506 ^a 79 (19)	8.71 0.15 (20)	6.04 0.17 (14)
5. Adrenalektomiert (C) ^d	6-8	8.03 (17)	15.42 ^c 0.37 (22)	405 ^d 56 (18)	284 ^d 41 (17)	10.86 0.12 (16)	6.58 0.33 (10)
6. Adrenalektomiert (S) ^d	6-8	13.70 (19)	8.55 ^a 0.32 (19)	165 20 (13)	678 ^b 95 (19)	10.31 ^c 0.17 (11)	5.94 0.22 (5)

^ap < 0.05; ^b< 0.01; ^c< 0.001 (t-Test nach Student : 3 vs 1; 5 vs 1; 4 vs 2; 6 vs 2);
^dNur Laparotomie und Adrenalektomie 10 Tage vor dem Experiment.

Im Streß ist auch Gesamtcalcium signifikant erniedrigt (Kontrolltiere), aber nach Adrenalectomie ist der streßbedingte Ca-Abfall nicht mehr nachweisbar. Gastrin liegt im Streß erheblich niedriger als unter Kontrollbedingungen. Das gleiche gilt für die Perfusion der Magenmucosa, wenn der lokale pO_2 (O_2 -Partialdruck) als Bezugsmaß gewählt wird.

4. Versuche zur Volumenexpansion

In Abb.5 kann demonstriert werden, daß massive Infusionen (bis zu 10 Prozent des Körpergewichts) von physiologischer Kochsalzlösung (Volumenexpansion) nicht etwa zu einem Verdünnungseffekt auf das zirkulierende pGl führt, sondern daß im Gegenteil erhöhte Plasmakonzentrationen gemessen werden. Zusätzliche Stimulation der alpha-Zelle durch Arginin führt zu einem weiteren pGl-Anstieg. Nach vorheriger Pankreatektomie ist die Expansion des extrazellulären Raumes relativ unwirksam, d.h. Plasma-pGl bleibt konstant oder fällt geringfügig ab. Arginingabe führt beim pankreatektomierten Tier in der Regel zu keiner oder nur angedeuteter weiterer Freisetzung von pGl.

Während der Volumenexpansion kommt es mit steigendem Plasma-pGl auch zur gesteigerten Na-Ausscheidung im Urin (Argininstimulation). Auch bei pankreatektomierten Tieren ist unter Arginin noch ein mittlerer Anstieg von pGl und Na-Clearance zu beobachten, aber letztere liegt wesentlich niedriger als bei intakten Hunden.

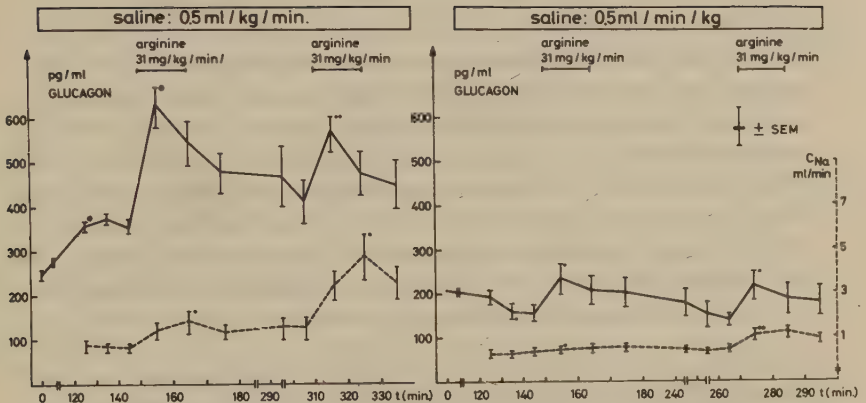


Abb. 5

Einfluß von progredienter Expansion des Extrazellulär-
raumes durch Kochsalzinfusion auf das immunoreaktive
pG1 und die Na-Clearence beim Hund.

Beachte den zusätzlichen Anstieg beider Parameter nach
Argininstimulation der alpha-Zelle beim intakten Tier
(links) und die entsprechenden Werte nach vorheriger
Pankreatektomie (rechts).

C_{Na}, --- = Na-Clearence, — = pG1

Anzahl der Tiere : intakt, n = 7

pankreatektomiert, n = 8

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; ° : p < 0,005

D I S K U S S I O N

Es war die Absicht dieser Studie, die Konzentrationsänderungen von pG1 im peripheren Blut unter bisher wenig bekannten Versuchsbedingungen darzustellen. Im besonderen trifft dies für die Studie unter Pentagastrin, für die Streßversuche bei der Ratte und für pG1 unter den Verhältnissen eines expandierten extrazellulären Volumens zu. Die erzielten Resultate sind zum Teil überraschend, zum Teil passen sie nicht völlig in das bisherige Gedankengut über die Homöostase glucoseregulierender Hormone.

1. Nüchtern-pG1 : Obwohl eine Reihe früherer Untersuchungen eine hypocalcämische Wirkung von pG1 dokumentieren konnte, ist die Beobachtung von erhöhten Plasmakonzentrationen des Hormons bei der hypercalcämischen Verlaufsform des primären Hyperparathyreoidismus bisher nicht bekannt. Unter Zugrundelegung eines 2 σ -Bereiches kommt man auf eine obere Normgrenze von ca. 200 pg/ml (Abb.1, gestrichelte Linie). Als ursächliche Faktoren für überhöhtes pG1 müssen unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen andere als reiner Glucosemangel in Betracht kommen. Seit langer Zeit ist ein Direkteinfluß von Calciumionen auf die Synthese und Freisetzung von Peptidhormonen bekannt (16). Zumindest bei Hyperparathyreoidismus ist dieser Mechanismus denkbar. Da aber auch bei Hypercalciurie ohne begleitende Hypercalcämie erhöhte Parathormonwerte beschrieben werden (17), rückt die Möglichkeit einer direkten Stimulation der alpha-Zelle

durch Parathormon in den Vordergrund. Gezielte klinische und tierexperimentelle Studien über diese Zusammenhänge stehen bisher aus. Es bleibt aber auffällig, daß Patienten mit Harnsäurelithiasis, die in Israel in einem höheren Prozentsatz einen Hyperparathyreoidismus aufweisen (18) und regelmäßig übergewichtig sind, ein normales pGl haben. Der von uns auf HPT verdächtig eingestufte Patient (Abb.1, Symbol +) hat sich in späteren Verlaufsuntersuchungen als unauffällig erwiesen.

2. Glucosebelastungen : Gemeinsames Zeichen aller Kranken mit Harnsteinen scheint eine verzögerte Glucosetoleranz mit überhöhten Insulinkonzentrationen zu sein. Die Glucoseutilisationskoeffizienten sind hochpathologisch (nicht mitgeteilt), was auf einen gestörten peripheren Metabolismus hinweisen kann. Ob ein solcher bei Harnsteinkranken allgemein existiert, muß in einer wiederholten Untersuchungsserie mit noch schärfer gruppierten Vergleichs- und Patientengruppen unter Beachtung der Kriterien der amerikanischen Lebensversicherungsgesellschaften überprüft werden. Erst dann erhebt sich die Frage, ob die von uns in den Abb.2 und 3 dokumentierte schlechte Supprimierbarkeit von pGl ursächlich mit einem relativen Glucosedefizit infolge Insulinmangels der alpha-Zelle in Zusammenhang gebracht werden muß, oder ob sie Folge einer bisher wenig beachteten Störung des peripheren Glucosemetabolismus ist. Unabhängig davon muß eine relative Hyperglucagonämie mit allen ihren Konsequenzen auf den Elektrolyt- und Wasserhaushalt als Risikofaktor richtig beurteilt werden. Außerdem muß der mögliche Krankheitswert der Hyperglucagonämie bei Harnsteinkrankheit besser verständlich werden als bisher. Indirekte Hinweise für

eine pathophysiologische Bedeutung ergeben sich, wenn die während Glucosebelastung ausgeschiedenen Urinelektrolyte einander gegenüber gestellt werden (nicht publiziert) : Steinkranke unterhalten eine signifikant höhere Exkretion von Calcium, anorganischem Phosphat und Harnsäure, während die Magnesiumausscheidung unauffällig ist.

3. Auswirkungen einer Injektion von Pentagastrin : aus den Untersuchungen von Kaneto et al. (19) war bekannt, daß das gesamte Gastrinmolekül (1-17 Heptadekapeptid) und das C-terminale Tetrapeptid (Tetragastrin) pG1 stimulieren. In unserer Studie konnte gezeigt werden, daß auch das synthetische Pentapeptid (Pentagastrin) als Stimulus von pG1 betrachtet werden muß. Aus den von uns gleichzeitig erfaßten Parametern (Calciumfraktionen, pH etc.) geht nicht eindeutig hervor, ob deren Änderung für die reaktive Glucagonämie verantwortlich ist. In einer früheren Untersuchungsreihe (unveröffentlicht) fanden wir zwar einen erheblich stärkerem pG1-Anstieg unter metabolischer Alkalose als unter alleiniger Argininstimulation, jedoch erklärt die Existenz eines alkalischen Milieus bei Kranken mit ulcus duodeni (Tab.1, Blut-pH) nicht das refraktäre Verhalten der alpha-Zellen während der ersten 15 Minuten nach der Injektion. Als weiterer auslösender Mechanismus für die bei Ulcuspatienten um ca. 15 Minuten verzögert eintretende pG1-Antwort kann eine mangelhafte sekundäre Freisetzung von Insulin durch Pentagastrin diskutiert werden. Die Folge wäre ein normaler Glucosemetabolismus der alpha-Zelle, bzw. das Fehlen von hypoglykämiebedingten Katecholaminen, die ihrerseits die pG1-Freisetzung stimulieren. Veränderungen der Calciumfraktionen im Serum, sowohl bei Gesunden als auch bei Ulcuskranken, müssen als Ursache der

pG1-Verzögerung ausscheiden (Abb.4), da sich die Fraktionen gegensätzlich verhalten : 1.der Abfall des ionisierten Calciumanteils bei Ulcuskranken muß der ausgeprägt metabolischen Stoffwechsellaage zugeschrieben werden. 2.selbst ein abrupter Anstieg des ultrafiltrierbaren Anteils um ca. 7 Prozent hat keine Rückwirkung auf zirkulierendes pG1. Vermutlich spielt die extrazelluläre Calciumkonzentration beim Menschen mit intakter Schilddrüsen-Nebenschilddrüsentätigkeit bei der pG1-Regulation keine tragende Rolle. Eine endgültige Klärung der Zusammenhänge ist jedoch erst zu erwarten, wenn zweifelsfrei geklärt ist, ob beim Menschen funktionelle Beziehungen zwischen dem thyreoidalen Calcitonin und gastrointestinalen Hormonen bestehen.

4. Einfluß von Streß auf pG1 : Im definierten Modell führt langfristige Einwirkung von psychischem Streß (Narkosefesselung) bei der Ratte zu deutlich höherem pG1, niedrigerem Gastrin und niedrigerem O_2 -Partialdruck der Magenmucosa, aber auch - vermutlich als Folge dieser Veränderungen - zu einer Häufung von gastrointestinalen Schleimhautläsionen und -ulcera. Diese Versuche waren für uns von besonderer Bedeutung, weil Lin und Mitarbeiter (20) bereits früher eine depressorische pG1-Komponente auf die Perfusion der Magenmucosa feststellen konnten, und weil nach den Untersuchungen von Unger und Mitarbeitern (21) auch unter bzw. während körperlichem Streß pG1 extrem ansteigt, ohne Magenulcera hervorzu- bringen. Da Gastrin im Streß eher tiefer liegt als unter Kontrollbedingungen, muß die Möglichkeit der Entstehung von Streßulcera als Folge der gleichzeitig erhöhten Magensäuresekretion eher bezweifelt werden. Viel wahrscheinlicher ist, daß der aktuellen pG1-Konzentration

eine Vermittlerrolle bei der erheblich eingeschränkten Mucosaperfusion zukommt, in deren Folge der Energiestoffwechsel des Funktionsepithels zusammenbricht. Erste Hinweise über die Verteilung und den Bestand energiereicher Verbindungen in der Magenmucosa unter Streßbedingungen wurden von Menguy (22, 23) vorgelegt. Auf der anderen Seite kann der streßbedingte Calciumabfall als sekundäres Phänomen, bzw. als Antwort auf die Steigerung von Plasma-pG1 betrachtet werden (24). Darüber hinaus aber muß die Ratte bisher nicht beachtete Mechanismen zur Regulation ihres Calcium-Stoffwechsels besitzen, denn vorherige Adrenalektomie verhindert zwar nicht den streßbedingten pG1-Anstieg, jedoch eindeutig den bei intakten Tieren beobachteten reaktiven Calciumabfall. In weiteren Versuchen muß gezeigt werden, ob eine Hemmung der pG1-Freisetzung die Entstehung von Streßulcera günstig beeinflußt.

5. pG1 während Expansion des extrazellulären Raumes : Aus formalen Erwägungen heraus besitzen pG1 und das noch nicht eindeutig klassifizierte sogenannte natriuretische Hormon eine Reihe von Gemeinsamkeiten : reaktiver Anstieg der Plasmakonzentration nach vorheriger Expansion des Extrazellulär-raumes durch Flüssigkeiten von unterschiedlichem Charakter (Vollblut, Plasmaersatzlösungen, Kochsalz etc.); Natrium- und Phosphatdiurese und Mehr-ausscheidung vom cyclischem Adenosinmonophosphat im Urin. Für das natriuretische Hormon wird zumindest ein proximaler, in jüngster Zeit auch ein distaler tubulärer Angriffsort gefordert, letzterer wurde dem pG1 bisher abgesprochen (25). Eine Reihe von Ergebnissen aus unserem Labor zeigen jedoch, daß endogen stimulierte pG1 ohne

gleichzeitige Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate die fraktionelle Natrium-Ausscheidung signifikant steigert (26). Der Einwand, daß auch nach vorheriger Pankreatektomie durch zusätzliche Argininstimulation eine reaktive Erhöhung des pGl und Mehrausscheidung an Natrium (Abb.5) zu erreichen sei, kann folgendermaßen entkräftet werden : Arginin stimuliert nicht nur pankreasständiges sondern auch Glucagon aus Zellen der Duodenalwand und des Magenfundus, und diese Substanz ist in ihren biologischen Eigenschaften identisch mit dem orthotop gebildeten Peptid (7).

Bisher ungeklärt bleiben jene Veränderungen, die unter solch extremen Bedingungen wie massiver Expansion des Extrazellulär-raumes (Dilutionseffekt) zur gesteigerten Freisetzung vom pGl führen. Eine Tendenz zur Hypoglykämie oder ein Verdünnungseffekt auf die Konzentration zirkulierender freier Fettsäuren müssen als alleinige Ursachen ausscheiden, insbesondere, weil insulinbedingte Glucosesenkung von vergleichbarem Grad keine entsprechende Steigerung der pGl-Konzentration nach sich zieht.

In einer jüngsten Publikation konnte dokumentiert werden, daß kochsalzinduzierte Vergrößerung des Extrazellulär-raumes zu einer massiven Freisetzung von L-Dopa führt (27). Diese Substanz aus dem Zentralnervensystem wurde aber ebenfalls in jüngster Zeit als ein hochpotenter Stimulus der alpha-Zelle bekannt (28). Möglicherweise muß auch die plötzliche Expansion des Extrazellulär-raumes als eine Form von psychischem Streß betrachtet werden, die den Gesetzen der Homöostase des Streßzustandes untergeordnet ist.

Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Die Nüchternkonzentration von pGI im Serum von Gesunden liegt zwischen 50-200 pg/ml.
Bei HPT ist sie regelmäßig erhöht, häufig auch bei Kranken mit den Symptomen sogenannter idiopathischer Hypercalciurie und assoziierter Calciumsteinbildung der Harnwege.
2. Durch Glucosezufuhr (i.v., oral) ist pGI bei Harnsteinkranken im Vergleich zu Gesunden nicht ausreichend zu supprimieren. Der Glucoseabstrom solcher Kranken ist erheblich verzögert.
3. Pentagastrin stimuliert pGI bei Gesunden prompt (15. Minute), bei Kranken mit ulcus duodeni mit einer Verzögerung von ca. 15 Minuten. Gleichzeitige Veränderungen der biologischen Calciumfraktionen können für diesen Unterschied nicht verantwortlich sein.
4. Im Fesselungsstreß der Ratte (psychischer und physischer Streß) finden sich deutlich stark erhöhte pGI-Werte im Serum und eine Erniedrigung der Magenperfusion. Zusammen mit einem im Streß ebenfalls niedrigen Gastrin muß vermutet werden, daß nicht die Säuresekretion des Magens für die Ulcusentstehung verantwortlich ist, sondern bisher wenig bekannte endokrin-metabolische Faktoren.

5. Nach Expansion des Extrazellulärtraumes finden sich signifikant höhere pGI-Werte im Serum als unter Ausgangsbedingungen. Die alpha-Zelle ist in diesem Zustand voll empfindlich gegenüber Arginin. Zum Zeitpunkt der Hormonspitzen finden sich im Urin ebenfalls überhöhte Werte für die Na-Clearance und die fraktionierte Na-Ausscheidung. Dies läßt vermuten, daß pGI an der Regulation des Urin-Na beteiligt ist.

L I T E R A T U R

1. P.J.Lefebvre and R.H.Unger (1972), 1-46, Pergamon Press, New York.
2. Assan, R., Rosselin, G. and Dolais, J. (1967), J. Ann. Diabetol. Hotel Dieu, 7, 25.
3. Ohneda, A., Aguilar-Parada, E., Eisentraut, A. M. and Unger, R. H. (1968), J. Clin. Invest. 47, 2305-22
4. Seyffert, W. A., Jr. and Madison, L. L. (1967), Diabetes 16, 765-76.
5. Madison, L. L., Seyffert, W. A., Jr., Unger, R.H. and Barker, B. (1968), Metabol. 17, 301-4.
6. Bloom, S. R., (1974), B. Med. Bull. 1, 62-67.
7. Unger, R. H. and Orci, L. (1975), the Lancet 1, 14-16.
8. P.J.Lefebvre and R.H.Unger (1972), 213-244, Pergamon Press, New York.
9. Paloyan, E., Paloyan, D. and Harper, P. V. (1967a), Metabolism. 16, 35-39.
10. Cave A. D., R. F. L. Bates et al. (1970), J. Endocr. 48, 667.
11. Brodie, D. A. and Hanson, H. M. (1960), Gastroenterology 38, 353.
12. Aguilar-Parada, E., Eisentraut, A. M. and Unger, R. H. (1969), Am. J. Med. Sci. 257, 415.
13. W.Schellerer, P.O.Schwille and P.Hermanek, Langenbecks Arch. Chir., Suppl. Chir. Forum, (1974).
14. Heyrowsky, A. (1956), Clin. Chim. Acta 1, 470-474.
15. Unger, R. H. et al. (1970), J. Clin. Invest. 49, 837-48.

16. Griffey, M. A., Howard, M. S. et al. (1974),
Diabetes 23, 494-98.
17. Frederic L. Coe and Allam G. Kavalach (1974),
N. Engl. J. Med., Vol. 291, 1344-50.
18. Atsmon A., de Vries A. et al. (1963), Uric. Acid.
Lithiasis, Elsevier Publisher, Amsterdam.
19. Kaneto et al. (1970), Endocrinology 86, 1175
20. Lin, T. M. and Warrick, M. W. (1971),
Gastroenterology 61, 328.
21. Harvey, W. D., Faloona, G. R. and Unger, R. H.
(1974), Endocrinology 94, 1254.
22. Menguy et al. (1974), Gastroenterology 66, 1177-86.
23. Menguy et al. (1974), Gastroenterology 66, 1168-76.
24. Tanzer, F. S., J.W. Kennedy III and Talmage, R. V.
(1970), Proc. Soc. exp. Biol. Med. 133, 500.
25. Levy, M. and Starr, N. (1972), Kidney Int., Vol.2, 76-84.
26. P.O.Schwille and Ch.Bornhof (1974), Europ. J.
Surg. Res. Suppl.
27. Wayne, R., Gill, J. R. et al. (1974), J. Clin.
Invest., Vol. 54, 194-200.
28. George, D. T. and Rayfield, E. J. (1974), J. Clin.
Endocr. Metabol. 39, 618-623.

LEBENS LAUF

Am 3. Juni 1949 wurde ich als zweiter Sohn des Mühleningenieurs Herbert Scholz und seiner Ehefrau Margarete Scholz in Nürnberg geboren. Nach 4-jähriger Volksschulzeit in Fürth-Vach, wurde ich im September 1959 in das Heinrich-Schliemann-Gymnasium in Fürth aufgenommen und legte am 23.7.1968 dort das Abitur ab. Am 28. Oktober 1968 begann ich an der Universität Erlangen-Nürnberg das Studium der Medizin und bestand hier am 8.10.1969 die naturwissenschaftliche, am 12.3.1971 die ärztliche Vorprüfung. Am 28. Januar 1975 habe ich die ärztliche Prüfung an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg abgelegt.

Druck HOGL ERLANGEN